

Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum)  
der Universität Bern

Direktor: Prof. A. von Muralt

---

Über den Einfluss  
der Insulin-Vorbehandlung  
auf die  
Acetylcholinwirkung

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae  
der Universität Bern

vorgelegt von

**Rolf Tobler, Bern**



**Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum)  
der Universität Bern**

**Direktor: Prof. A. von Muralt**

---

**Über den Einfluss  
der Insulin-Vorbehandlung  
auf die  
Acetylcholinwirkung**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae  
der Universität Bern

vorgelegt von

**Rolf Tobler, Bern**

Auf Antrag des Herrn Prof. A. von Muralt von der  
medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation  
genehmigt.

*Bern, den 13. Juli 1949.*

Der Dekan der medizinischen Fakultät:

**Prof. Dr. J. Dettling**



## Problemstellung

Wyss und v. Muralt<sup>1</sup> konnten am Froschherzen zeigen, dass durch Reizung des Vagus eine Aneurinverbindung freigesetzt wird, welche sie quantitativ bestimmten. Der Stoff wird von v. Muralt<sup>2</sup> als zweiter Vagusstoff bezeichnet. Gemeinsam mit Wyss<sup>1</sup> fand er, dass der zweite Vagusstoff eine hemmende Wirkung auf den ersten (Acetylcholin) ausübt. Er nimmt an, dass das Wirkungsgleichgewicht der beiden Stoffe von der Stoffwechsellaage des Gewebes abhängt. Später wiesen Cottier und v. Muralt<sup>3</sup> nach, dass auch die durch die Vagusreizung im Froschherzen freigesetzte Aneurinverbindung die Acetylcholinwirkung zu hemmen vermag. Durch Bestrahlung dieser Aneurinverbindung mit UV-Strahlen konnten sie deren Wirkungsweise beeinflussen.

Nach Welsh<sup>4</sup> wird durch protrahierte Insulinwirkung und eine vermehrte Kohlehydratausnützung die Acetylcholinempfindlichkeit des Froschherzens herabgesetzt, durch eine rasche Insulinwirkung jedoch und eine herabgesetzte Kohlehydratausnützung das Gegenteil verursacht.

Diese Versuche können darauf schliessen lassen, dass die negativ-inotrope Wirkung des Acetylcholins durch eine Aenderung in der Stoffwechsellaage der Herzmuskulatur modifiziert wird.

Es erschien uns daher wertvoll, diese Versuche nachzuprüfen und eventuell zu ergänzen.

## Methodik

Versuchszeit: August bis Oktober 1945 und 1946; März 1945. Im Sommer wurde *Rana temporaria* und *Rana pipiens* (Lötschental, Wallis), innerhalb von 5 Wochen nach dem Fang der Frösche, verwendet. (Gewicht 70—110 g). Im März mussten wir uns mit kleinen Fröschen (Winterthur), (nach Gefangenschaft von 5—7 Wochen bei 8 Grad) begnügen.

In der 1. Versuchsreihe (Nachprüfung der Resultate von Welsh) wurde 1 Einheit (E.) Insulin «Novo» (Firma Nova Therapeutik, Laboratorium A/S Copenhagen) gemischt mit 1 ccm Ringerlösung in den Rückenlymphsack eingespritzt. (Vgl. v. Muralt<sup>5</sup>.)

Einwirkungsdauer des Insulins: 6, 12, 24 und 48 Std. bei 15 Grad Raumtemperatur (wobei für die letztgenannte Zeit nach den ersten 24 Std. 1 E. Insulin nachinjiziert wurde). Bei 25 Grad (Thermostat): 6, 12 und 24 Std.

Nach dieser Vorbereitung wurde der Frosch dekapitiert, sein Rückenmark ausgebohrt und für die erste Versuchsgruppe das isolierte Herz an der Symes-Kanüle verwendet.

Das Flüssigkeitsniveau in der Kanüle wurde zur Vermeidung von Druckschwankungen in konstanter Höhe gehalten (1 ccm von allen Lsg.). Sobald mit Ringerlösung eine konstante Hubhöhe des Herzens erreicht war, wurde der Inhalt der Kanüle durch eine Konzentrationsreihe von Acetylcholinlösungen ersetzt. (Acetylcholinchlorid der Firma F. Hoffmann-La Roche; bei jedem Versuch wurde durch Verdünnung mit Ringerlösung eine Konzentrationsreihe, ausgehend von einer Stammlösung  $10^{-2}$  g/ccm, die wegen schlechter Haltbarkeit im Eisschrank aufbewahrt wurde, hergestellt.)

Verwendete Konzentrationen:  $10^{-8}$  bis  $5 \cdot 10^{-9}$  g/ccm. Nach jeder Acetylcholinzugabe wurde gespült, bis die normale Hubhöhe bei Ringerlösung wieder erreicht war. Registrierung: Hubhöhe bei Ringerlösung, ihre stärkste Abnahme durch Acetylcholinzugabe, Hubhöhe nach voller Erholung bei Ringerlösung. Anwendung jeder AcetylcholinKonzentration 2—4 mal, um die negativ-inotrope Wirkung quantitativ klar zum Ausdruck zu bringen.

Auch bei Anwendung der gleichen Konzentration konnte der negativ-inotrope Effekt an verschiedenen Herzen nicht gleich stark reproduziert werden, da die Herzen eine unterschiedliche pharmakodynamische Ansprechbarkeit besitzen. Diese Tatsache hat auch *Raaflaub*<sup>6</sup> festgestellt. In besonderem Masse fiel diese individuelle Variabilität im Sommer auf.

Es ist möglich, dass ein Tageszyklus in der Ansprechbarkeit des Frosches auf Insulin besteht (*Welsh*<sup>4</sup>). Deshalb musste die Zeit der Insulininjektion beachtet werden. Für eine Einwirkungsdauer von 6 Std. wurde das Insulin am Morgen, für eine solche von 12 Std. am Abend injiziert. 5 von insgesamt 17 Versuchen wurden zu einer von den angegebenen Anforderungen abweichenden Zeit durchgeführt. Es erwies sich, dass sie sich in den Rahmen der übrigen Ergebnisse einfügten.

In einer zweiten Versuchsgruppe wurde der ganze rectus abdominis in einem mit Ringerlösung gefüllten Gefäß befestigt und durch Verbindung mit dem isotonischen Schreibhebel in eine geeignete Spannung gebracht. Die Länge des Schreibhebel-

armes und seine Belastung blieben konstant. Ersetzung der Ringerlösung durch Acetylcholinlösungen verschiedener Konzentration ( $10^{-8}$  bis  $10^{-5}$  g/ccm).

Nach jeder Messung wurde mit Ringerlösung gewaschen, bis die ursprüngliche Spannung des Muskels erreicht war.

Die Zeit zwischen Beginn und Beendigung der Registrierung blieb in einer Versuchsreihe konstant (2 bis 4 Minuten).

In der 2. Versuchsreihe (Ergänzung zu den Versuchen von *Welsh*) wurde der Frosch nach der Methode von *Fühner*<sup>7</sup> präpariert. Narkose mit 10% Urethan, 2 bis 4 ccm (je nach dem Gewicht des Frosches). Dauer bis zum Eintritt der Narkose: 1 bis  $1\frac{1}{2}$  Stunden. Der Frosch wurde auf ein Froschbrett gespannt, Brustbein und Herzbeutel vorsichtig gespalten, das Herz herausgehoben, mit einer Serre-Fine gefasst und mit dem Schreibhebel verbunden. Schutz vor Austrocknung durch einen mit Ringerlösung getränkten Wattewall. Das Gegengewicht am Schreibhebel wurde zur Vermeidung der Nachfederung klein gehalten. Einspritzen der Lösung in die auf kurze Strecke freigelegte vena abdominalis mit einer feinen Injektionsnadel unter gleichmässiger Geschwindigkeit und bei gleichem Abstand vom Herzen. Nach dem Herausziehen der Nadel wurde die Einstichstelle sofort kauterisiert. Die verschiedenen AcetylcholinKonzentrationen ( $5 \cdot 10^{-5}$  bis  $2 \cdot 10^{-5}$  g/ccm; 00,5 bis 00,8 ccm) wurden geprüft, bis die in jedem Fall optimal wirkende gefunden war und zweimal gleiche Ergebnisse gezeigt hatte. Dann wurden 2 bis 4 E. Insulin injiziert. Nach einer bestimmten Zeit, die in Tabelle 9 angeführt ist, wurde wieder zweimal die vorher verwendete Acetylcholin-Konzentration eingespritzt. Dadurch kann die Reaktion desselben Herzens vor und nach Insulineinwirkung verglichen werden.

## Versuchsergebnisse

### Vorversuche

In drei Versuchsanordnungen liessen wir das Insulin unter verschiedenen Bedingungen direkt auf das in der Symeskanüle isolierte Herz einwirken.

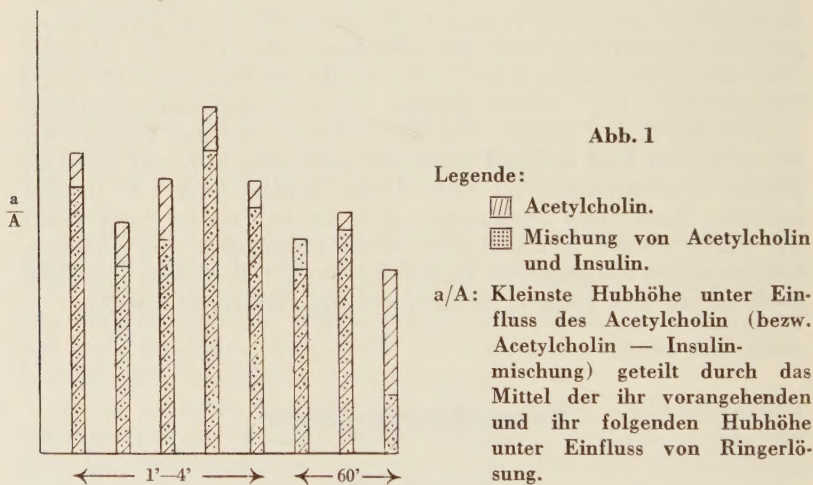
1. Bei 10 Versuchen beobachteten wir die Wirkung von 1 E. Insulin pro 1 ccm Ringerlösung auf das isolierte Herz. (Unter Neutralisation der sauren pH-Wirkung des Insulins. Pufferung auf pH 7,37 durch Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  zur Ringerlösung.)

Wir stellten dabei eine negativ-inotrope Wirkung des Insulins fest, die mit der Einwirkungsdauer langsam zunimmt und erst durch Auswaschen mit Ringerlösung verschwindet.

Wenn die Hemmung der Hubhöhe durch das Insulin berechnet wird aus dem Verhältnis der kleinsten Hubhöhe unter Insulineinwirkung, geteilt durch das Mittel der vorangehenden und nachfolgenden Hubhöhe unter Einfluss von Ringerlösung, erhalten wir Werte, die zwischen 0,75 und 0,9 schwanken.

In 9 von 15 Fällen erhielten wir eine gleichartige Wirkung am Präparat nach *Fühner* bei intravenöser Applikation des Insulins. (S. Abb. 8, Tafel I.)

2. Von einer Acetylcholkonzentration, die bei dreimaliger Anwendung eine regelmässige, 50prozentige Hemmung der Hubhöhe bewirkte, wurde zweimal je 1 ccm mit 1 E. Insulin versetzt und während der in Abb. 1 angegebenen Zeit bei 15 Grad stehen gelassen. Hierauf wurde die Mischung am Froschherzen geprüft.



Aus der Abbildung geht hervor, dass die negativ-inotrope Wirkung des Acetylcholins durch den Insulinzusatz verstärkt wird. (S. Abb. 9, Tafel I.)

3. Vier weitere Versuche wurden so gestaltet, dass nach mehrmaliger Anwendung der optimal wirkenden Acetylcholkonzentration am isolierten Herzen 0,5—1 E. Insulin mit 1 ccm Ringerlösung gemischt, direkt in die Symeskanüle gegeben

wurde. Nach 30 Minuten Einwirkungsdauer wurde die Mischung aus der Kanüle entfernt, das Herz mit Ringerlösung nachgespült, und die oben gefundene AcetylcholinKonzentration wieder verwendet.

Nach der Insulineinwirkung ist eine verstärkte negativ-inotrope Wirkung des Acetylcholins festzustellen. (S. Abb 10, Tafel I.)

## Hauptversuche

### 1. Versuchsreihe

In den folgenden Darstellungen der Abb. 2 bis 6 (vgl. dazu auch Abb. 11 bis 14, Tafeln II bis V) ist die erste Gruppe von Resultaten dieser Versuchsreihe zusammengefasst. Es sollte dabei nach der oben beschriebenen Methodik die Angabe von *Welsh* geprüft werden, dass 1 E. Insulin bei 15 Grad und einer Wirkungsdauer von 6 bis 24 Stunden den negativ-inotropen Einfluss des Acetylcholins am isolierten Froschherzen eindeutig herabsetzte.

Bei einer Wirkungsdauer von 48 Stunden und einer solchen bis zu 24 Stunden bei 25 Grad, wird der Einfluss des Acetylcholins verstärkt (procholinergische Wirkung\*).

Die Aufzeichnungen auf dem Kymographion wurden gemessen und nach der Formel berechnet: kleinste Hubhöhe unter Acetylcholineinfluss, geteilt durch das Mittel der ihr vorangehenden und der ihr folgenden Hubhöhe unter Einfluss von Ringerlösung ( $a/A$ ). Das heisst: je grösser die negativ-inotrope Wirkung ist, desto kleiner wird der Wert. Diese Werte sind auf der Ordinate eingetragen (der untenstehenden Abb.).

Mit jedem Herzen, das unter Insulineinfluss gestanden hat, wurde ein Testherz von Fröschen, die unter sonst gleichen Bedingungen gehalten wurden, verglichen.

Diejenigen Versuche, die eine Modifikation der Acetylcholinempfindlichkeit nach Insulinwirkung im Sinne der Resultate von *Welsh* zeigten, sind dick umrandet, diejenigen, die sie vermissen liessen, dünn.

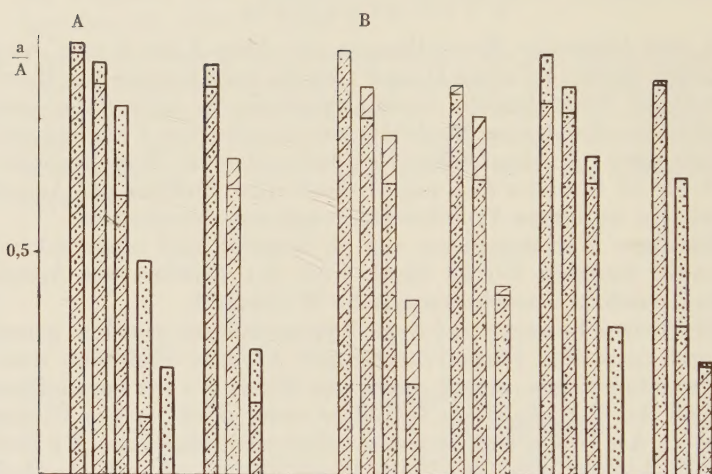
Die einzelnen Versuche wurden mit einer bis mehreren AcetylcholinKonzentrationen durchgeführt (beginnend mit der schwächsten Konzentration). Jede Konzentration ist durch eine besondere Säule dargestellt.

---

\*) Eine Hemmung des Acetylcholineinflusses wird von *v. Muralt* als anticholinergische, eine Förderung als procholinergische Wirkung bezeichnet. Wegen ihrer Klarheit werden wir in der Folge diese Bezeichnungsweise verwenden.

**Legende:**  
(Gilt auch für die nachfolgenden Abb. 3 bis 6)

Herz unter Insulineinfluss  
 Testherz



**Abb. 2**

Einwirkungsdauer des Insulins:  $\left. \begin{array}{l} 6 \text{ Std. (A)} \\ 12 \text{ Std. (B)} \end{array} \right\} \text{ Bei } 15^{\circ}.$

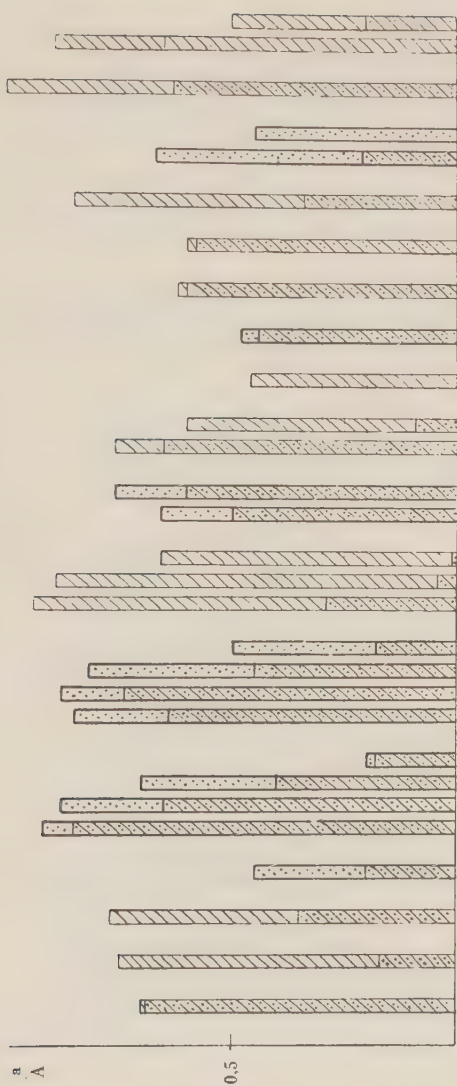
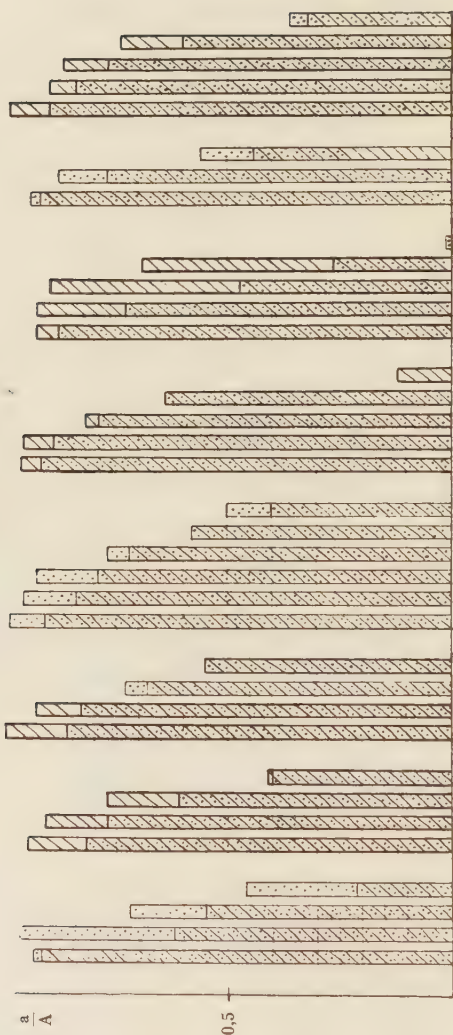


Abb. 3  
Einwirkungsdauer des Insulins: 24 Std. bei 15%.



**Abb. 4**  
Einwirkungsdauer des Insulins: 48 Std. bei 15°.

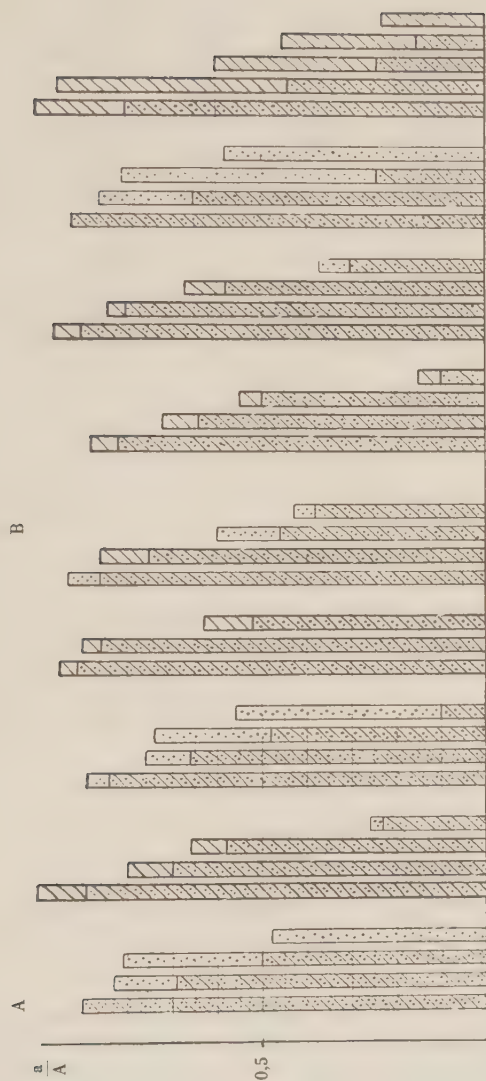
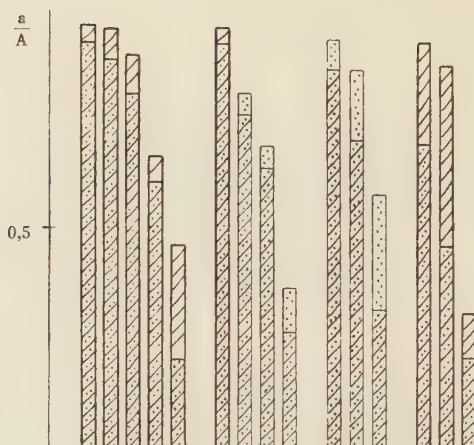


Abb. 5  
Einwirkungsdauer des Insulins: 6 Std. (A) } bei 25°.  
12 Std. (B) }



**Abb. 6**

Einwirkungsdauer des Insulins: 24 Std. bei 25°.

|   | Abb. 2 | Abb. 3 | Abb. 4 | Abb. 5 | Abb. 6 |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| + | 4      | 6      | 5      | 5      | 2      |
| — | 2      | 11     | 3      | 4      | 2      |

**Tabelle 1**

Zusammenfassung der Versuche aus Abb. 2 bis 6

Legende: + Insulinwirkung im Sinne der Resultate von Welsh.

— Insulinwirkung, die den Resultaten von Welsh entgegengesetzt ist.

Die Versuche, die in Abb. 3 dargestellt sind, setzen sich zusammen aus 10 Versuchen, bei denen nur eine Acetylcholin-konzentration verwendet wurde, und 7, die mit verschiedenen Konzentrationen durchgeführt worden sind. Da darauf geachtet wurde, dass die Stärke der negativ-inotropen Wirkungen in den emp-

findlichsten Schwankungsbereich der Hubhöhe bei einem Wert derselben von 0,2 bis 0,7 fällt, können wir die Ergebnisse als Stütze für unsere Versuche verwenden.

Mit besonderer Vorsicht müssen wir die Versuche der 25<sup>0</sup> Reihe verwerten, weil die Hälfte derjenigen Frösche, welche nach Insulininjektion 24 Stunden lang bei 25 Grad gehalten wurde, gestorben ist, und weil auch die übrigen nicht mehr die gleiche Vitalität aufwiesen.

Bei der Beurteilung der Resultate fällt vor allem die unregelmässige, zum Teil pro-, zum Teil anticholinergische Wirkung des Insulins auf.

In der folgenden Abb. sind als zweite Gruppe der ersten Versuchsreihe einige Versuche am rectus abdominis von Fröschen, die während 24 Std. bei 15 Grad unter der Einwirkung des Insulins gestanden haben, dargestellt.

*Welsh* hat gefunden, dass sich die Modifikation der Acetylcholinwirkung durch das Insulin am rectus abdominis gerade umgekehrt verhält als am Herzen.

Unter den genannten Versuchsbedingungen müsste demnach eine procholinergische Wirkung nach Insulininjektion eintreten.

Jeder einzelne Versuch wurde wieder von einem Testversuch begleitet.

Die Stärke der Muskelkontraktion wurde auf die Ordinate der Abb. eingetragen. Die Signaturen haben die gleiche Bedeutung wie oben.

(Siehe Abb. 15, Tafel VI.)

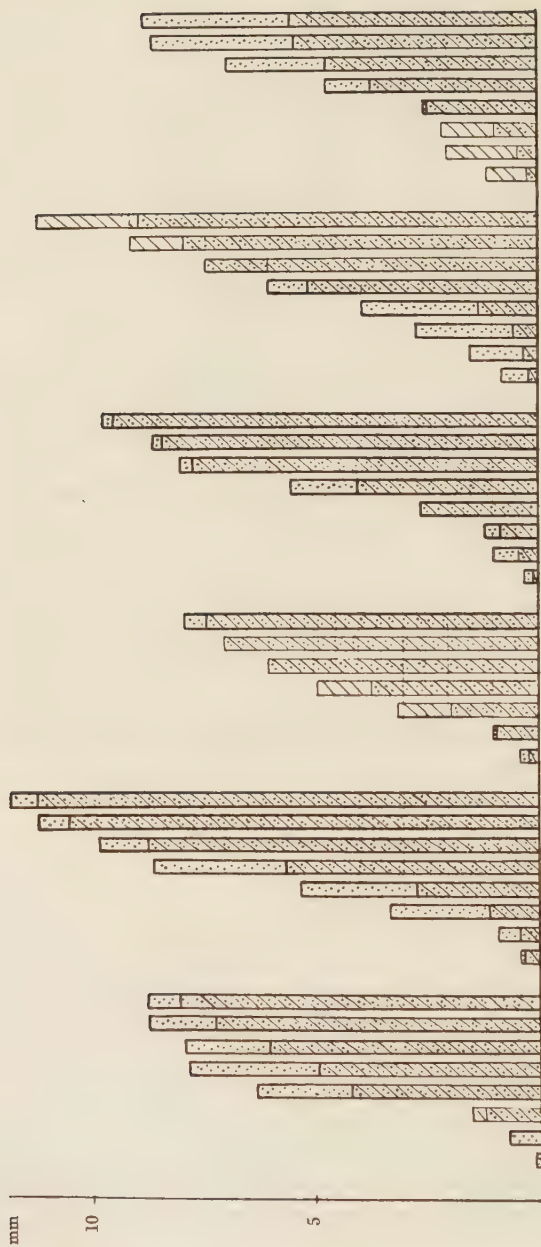


Abb. 7

Einwirkungsdauer des Insulins: 24 Std. bei 15°. Versuchszeit: Oktober.

Legende: ■ rectus abdominis unter Insulineinfluss.

▨ rectus abdominis ohne Insulin (Test).

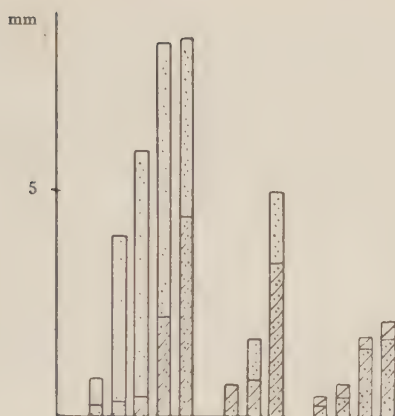


Abb. 7a

Versuchszeit: März.

Die Versuche lassen eine Insulinwirkung im Sinne von *Welsh* nicht ausschliessen.

## 2. Versuchsreihe

Diese Versuchsreihe zeigt die Ergebnisse am Präparat nach *Fühner*. Die Versuchstechnik wird auf der unten folgenden Tabelle 2 bei allen denjenigen Fällen als fragwürdig bezeichnet, bei welchen das Einfließen der Lösung in das kleine freigelegte Stück der vena abdominalis nicht genau beobachtet werden konnte, oder bei denen Blutverluste das Resultat unsicher gestalteten.

Eine graphische Zusammenstellung der Resultate kann nicht gegeben werden, da jedes Herz mit einer ihm eigenen Kurvenform reagiert. (Siehe Abb. 16 und 17, Tafeln VII bis IX.)

Wir stellen im folgenden die Versuchsergebnisse in einer Tabelle zusammen.

Tabelle 2

| E.              | Insulin<br>Dauer der<br>Wirksamkeit | Kurvenform und<br>Amplituden-<br>verhältnisse |                                                 | Versuchs-<br>technik | Wirkungs-<br>weise des<br>Insulins<br>— procholi-<br>nergisch<br>+ anticholi-<br>nergisch |
|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                                     | b. Ac. chol.<br>test                          | b. Ac. chol.<br>nach der<br>Insulin-<br>wirkung |                      |                                                                                           |
| <i>Oktober:</i> | 3 E.                                | 15 h                                          | ohne Veränderung                                | fragwürdig           | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 90 Min.                                       | A 0,23 Block                                    | fragwürdig           | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 60 Min.                                       | A 0,25 A 0,66                                   | fragwürdig           | +                                                                                         |
|                 |                                     | 5 h                                           | A 0,1                                           | fragwürdig           | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 12 Min.                                       | A 0,25 Block                                    | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 25 Min.                                       | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 40 Min.                                       | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 60 Min.                                       | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 60 Min.                                       | ohne Veränderung                                | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 60 Min.                                       | A 0,56 A 0,3                                    | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 5 h                                           | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 21 h                                          | A 0,25                                          | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 90 Min.                                       | A 0,45 A 0,42                                   | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 6 h                                           | A 0,33                                          | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 60 Min.                                       | A 0,07 Block                                    | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 90 Min.                                       | ohne Veränderung                                | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 5 h                                           | ohne Veränderung                                | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 45,60 Min.                                    | ohne Veränderung<br>unregelmässig               | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 2 E.                                | 2 h                                           | kurzer Block langer Block                       | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 4 E.                                | 75 Min.                                       | A 0,5 Block                                     | fragwürdig           | —                                                                                         |
|                 | 4 E.                                | 80 Min.                                       | A 0,23 Block                                    | fragwürdig           | —                                                                                         |
|                 | 4 E.                                | 60 Min.                                       | A 0,6 A 1,1                                     | fragwürdig           | +                                                                                         |
|                 |                                     | 90 Min.                                       | Block                                           | fragwürdig           | —                                                                                         |
|                 | 4 E.                                | 30 Min.                                       | kurzer Block langer Block                       | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 60 Min.                                       | langer Block                                    | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 4 E.                                | 60 Min.                                       | Block A 0,9                                     | i. O.                | +                                                                                         |
|                 |                                     | 5 h                                           | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
|                 | 4 E.                                | 50 Min.                                       | A 0,5 A 0,76                                    | i. O.                | +                                                                                         |
|                 |                                     | 90 Min.                                       | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
|                 |                                     | 100 Min.                                      | Block                                           | i. O.                | —                                                                                         |
| <i>März:</i>    | 2 E.                                | 45 Min.                                       | A 0,4 A 0,9                                     | fragwürdig           | +                                                                                         |
|                 |                                     | 60 Min.                                       |                                                 |                      |                                                                                           |
|                 | 2 E.                                | 90 Min.                                       | Block A 0,76                                    | fragwürdig           | +                                                                                         |

Nach kritischer Durchsicht dieser Tabelle muss eine anticholinergische Wirkung von 2 E. Insulin (i. v.) abgelehnt werden. Man könnte eher an eine Verstärkung des Effektes denken, oder sogar an eine leichte Schädigung der Herzmuskulatur durch das Insulin. Es ist jedoch möglich, dass die Resultate bei denjenigen Fröschen, die 4 E. Insulin erhalten haben, tatsächlich auf eine anticholinergische Wirkung des Insulins schliessen lassen können. Diese wäre 90 Minuten nach der Insulininjektion wieder abgeklungen.

Wenn auch in dieser Versuchsreihe wegen der heiklen Versuchsbedingungen Fehler möglich sind, so wirken sie sich doch nicht stark aus, da die Acetylcholinwirkung vor und nach Insulin am gleichen Herzen geprüft werden kann.

## Diskussion

*Marshall*<sup>8</sup> hat beobachtet, dass bei vermehrter Verdauungstätigkeit das Schlagvolumen des Herzens zunimmt. Nach *v. Muralt*<sup>2</sup> weist diese Tatsache darauf hin, dass der Vagotonus, unter dessen Einfluss der Organismus während der Zeit der Verdauung steht, für die Herzarbeit durchbrochen ist und es dem Herzen dadurch ermöglicht wird, die vermehrte Arbeit, die es während der Verdauung zu leisten hat, zu bewältigen. Er nimmt an, dass dabei dem 2. Vagusstoff (Aneurin) eine wichtige Rolle zukommt, da die Stoffwechsellage des Herzmuskels das Wirkungsgleichgewicht zwischen dem ersten und dem zweiten Vagusstoff bestimmt. Zusammen mit *Wyss*<sup>1</sup> konnte er am Froschherz-Vaguspräparat beweisen, dass durch Reizung des Vagus eine Aneurinverbindung freigesetzt wird. Am isolierten Froschherz wies er deren anticholinergische Wirkung nach. *Cottier* und *v. Muralt*<sup>3</sup> konnten weiterhin zeigen, dass diese Wirkung auch der durch die Vagusreizung frei gesetzten Verbindung zukommt.

*Moniz de Bettencourt*<sup>9</sup> erhielt nach subcutaner Aneurinapplikation und anschliessender Reizung des Vagus dieselbe Wirkung. In der gleichen Richtung weisen auch die Versuche von *Wilder* und *Smith*<sup>10</sup>, die feststellen, dass die B-Avitaminose beim Menschen zu Bradycardie und arterieller Hypotonie führt. Auf den Stoffwechsel wirkt das Aneurin (als Cocarboxylase) dadurch ein, dass es den oxydativen Brenztraubensäureabbau fördert und so den Zuckerumsatz steigert.

Wenn Aneurin fehlt, steigt sekundär das Herzglykogen an (*Edlund*<sup>11</sup>). Bei andersartiger Belastung des Herzens kann auch

das Sinken des Herzglykogens infolge Aneurinmangels beobachtet werden (*Van Heerswynghe*<sup>12</sup>).

Die Beobachtungen über die Wechselwirkung zwischen Aneurin und Acetylcholin können zu einer feineren Erfassung der vegetativen Steuerung des Herzens führen. Da Aneurin in den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens eingreift, lag es nahe, den Herzstoffwechsel auch durch Insulin zu beeinflussen und dann zu beobachten, ob die Acetylcholinwirkung verändert wird.

Zur Beurteilung der Resultate ist es nötig, vorerst die Insulinwirkung auf das Herz näher zu studieren.

### *Der Einfluss auf die Herzdynamik*

*Guerra*<sup>12</sup>, *Barlow*<sup>14</sup>, *Bucciardi*<sup>15</sup> und *Cahen*<sup>16</sup> fanden eine positiv-inotrope Wirkung des Insulins auf das isolierte Frosch- beziehungsweise Krötenherz. *Visscher* und *Müller*<sup>17</sup> gaben nach Untersuchung am Herz-Lungenpräparat einen günstigen Einfluss des Insulins auf die Herzkraft an.

Im Unterschied zu den genannten Autoren stellte *De Agazio*<sup>18</sup> nach Insulin beim Krötenherz zwar eine Steigerung der Hubhöhe, jedoch eine Verminderung der Frequenz fest. Eine negativ-inotrope Wirkung des Insulins fanden *Pal* und *Prasad*<sup>19</sup> bei der Injektion von 5 bis 10 Einheiten Insulin in den dorsalen Lymphsack des Frosches. Sie wurde durch den Zusatz von Glucose, Laevulose, Saccharose in eine positiv-inotrope Wirkung umgewandelt.

*Hennequin*<sup>20</sup> berichtete ebenfalls über eine negativ-inotrope Wirkung des Insulins auf das isolierte Froschherz. Gleiche Resultate erhielten *Eisenmayer* und *Quincke*<sup>21</sup>, *Tamaki*<sup>22</sup> und *Borovitch*<sup>23</sup>.

*Tanzi*<sup>24</sup> beobachtete bei der Durchströmung des Kaninchenherzens mit Insulin überhaupt keine Wirkung auf die Herztätigkeit.

In der Beurteilung der Resultate muss vor allem die unterschiedliche pH-Wirkung der Insulinlösungen mitberücksichtigt werden. Durch die Applikation in den dorsalen Lymphsack ist diese Fehlerquelle wahrscheinlich ausgeschaltet. Wir möchten daher die Ansicht von *Pal* und *Prasad*, dass das Insulin auf die Herztätigkeit einen negativ-inotropen Einfluss ausübt, unterstützen, denn wir haben die Frage noch einmal geprüft und fanden — unter Berücksichtigung der pH-Wirkung — ebenfalls eine negativ-inotrope Wirkung des Insulins auf das isolierte Froschherz. Am Präparat nach *Fühner* war die Wirkung weniger ein-

deutig, aber auch da zeigten 60% der Versuche eine negativ-inotrope Insulinwirkung.

### *Toxische Schädigung des Herzens durch Insulin*

Negri<sup>25</sup> und Meessen<sup>26</sup> fanden bei hohen Insulindosen Fasernekrosen mit degenerativen Veränderungen. Auch Eisenmayer und Quincke betonten die schädigende Wirkung des Insulins auf das Herz. Demgegenüber konnten Hadorn<sup>27</sup> und Meyer<sup>28</sup> keine pathologisch-anatomischen Veränderungen feststellen.

Von klinischer Seite wurde verschiedentlich über eine toxische Wirkung des Insulins auf den Kreislauf berichtet. (Gigon, Strauss, Schönbrunner u. a.)<sup>29</sup> Hijmans van Bergh<sup>29</sup> beobachtete nach Insulin Vorhofflimmern.

Die Frage, ob die Veränderung des Ekg nach der Insulinbehandlung (Senkung von S — T, flaches T) auf eine direkte toxische Insulinwirkung, oder auf eine durch Insulin erzeugte Hypoglykämie zurückzuführen sei, wurde von Hadorn<sup>27</sup> dahin beantwortet, dass beides als Ursache in Frage komme.

Wir haben bei unsern Versuchen am Führerpräparat festgestellt, dass der Rhythmus des Herzens nach einem Acetylcholinreiz um so unregelmässiger wird, je länger das Herz unter Insulinwirkung gestanden hat. Dies könnte für eine toxische Insulinschädigung sprechen (vgl. Abb. 16, Tafel VII).

### *Eingriff des Insulins in den Stoffwechsel*

Die Wirkung des Insulins auf den Herzmuskel und auf den Skelettmuskel führt zur Glykogensynthese. Bei normalem Blutzucker kommt es zu einer Glykogen-Speicherung, bei niedrigem Blutzucker sorgt es für dessen Schutz (Cruickshank<sup>30</sup>). Anders können die Verhältnisse bei Veränderungen am Inselapparate liegen.

Bei Diabetes nimmt der Glykogengehalt des Herzmuskels zu (Fischer und Lackey<sup>31</sup>). Evans<sup>32</sup> wies auf das Ansteigen des Herzmuskelglykogens im Anschluss an eine Pankreatomie hin.

Schorr, Sweet und Malam<sup>33</sup> beschrieben eine Verminderung des Kohlehydratstoffwechsels nach Pankreatomie.

Nach hohen Insulindosen fanden Meyer<sup>29</sup> und Hadorn<sup>27</sup> einen stark herabgesetzten Glykogengehalt des menschlichen Herzens. Hadorn gab jedoch in Uebereinstimmung mit Eggers und Schumann<sup>34</sup> auch an, dass er manchmal normal bleibe. Im Gegensatz zu den genannten Autoren stellte Michelezzi<sup>29</sup> eine Vermehrung fest.

Wichtig für das Ausmass der Glykogensynthese durch das Insulin ist vor allem das Verhältnis zwischen dem Blutzuckerspiegel und der Konzentration von Kohlehydrat und Glykogen im Herzen (*Cruickshank, Shrivastava*<sup>35</sup>).

Die genannten Faktoren verändern bei den Insulinversuchen die Vorbedingungen derart, dass die Verhältnisse nicht immer genau übersehen werden können. Diese Tatsache erklärt weitgehend die sich widersprechenden Angaben über den Glykogengehalt des Herzmuskels nach hohen Insulindosen. Sie muss auch bei der kritischen Beurteilung unserer Versuche mitberücksichtigt werden.

Zusammenfassend können wir sagen, dass das Insulin auf das Herz einen negativ-inotropen Effekt und eine nicht genau fassbare toxische Wirkung ausübt und dass es für die Glykogensynthese verantwortlich ist. Das Ausmass des Eingriffs in den Kohlehydratstoffwechsel kann jedoch bei jedem Herzen wieder etwas anders sein, je nachdem sich seine individuellen Zuckerstoffwechselverhältnisse gestalten.

Diese Ueberlegungen lassen es möglich erscheinen, dass durch Insulin die Empfindlichkeit des Herzens auf Acetylcholin verändert wird.

*Raihä*<sup>36</sup> ligierte bei einem Kaninchen central den Vagus und fand, dass 40 Einheiten Insulin i. v. verabreicht den negativ-inotropen Effekt der faradischen Reizung herabzusetzen vermögen. *Barlow*<sup>14</sup> berichtete über Versuche am isolierten Froschherzen. Stimulierende Insulindosen setzten die Empfindlichkeit auf elektrische Vagusreize herab.

Zu diesen Untersuchungen gehören auch die Versuche von *Welsh*<sup>4</sup>, die wir zur Grundlage unserer Versuche gewählt haben.

In der Versuchsreihe am isolierten Herzen fanden wir, dass das Insulin die Wirkung des Acetylcholins erhöht. Unter Berücksichtigung der Theorie von *Hörber*<sup>37</sup> über die Wirkungsweise des Insulins könnte daran gedacht werden, dass das Insulin die Permeabilität des Gewebes erhöht. Es ist ja auch bekannt, dass nach einer Permeabilitätsveränderung durch Harnstoff (*Heim*<sup>38</sup>) die Acetylcholinwirkung verstärkt wird.

Da aber ohnedies die Acetylcholinempfindlichkeit während der Versuchsdauer zunimmt, nehmen wir als Ursache eher eine Summation von vagalen Reizen an. Die Beziehung des Insulins zum Vagus ist aus verschiedenen Arbeiten bekannt und geht überdies aus der negativ-inotropen Wirkung des Insulins auf das Herz hervor.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Resultate von *Welsh* geprüft. Im Gegensatz zu seinen Ergebnissen, in denen er feststellte, dass die Acetylcholinempfindlichkeit des Froschherzens und des rectus abdominis durch die Vorbehandlung des intakten Frosches mit Insulin in ganz bestimmtem Sinne verändert wird, fanden wir bei unseren Versuchen eine uneinheitliche und unregelmässige Empfindlichkeitsänderung. Auch am Ganzfrosch, präpariert nach *Fühner*, bei dem wir die Acetylcholinempfindlichkeit vor und nach i. v. Insulininjektion prüften, erhielten wir nur unsichere Resultate.

Für die unregelmässige Acetylcholinempfindlichkeit können zwei Gründe massgebend sein:

1. Die Lage des Kohlehydratstoffwechsels, von der das Ausmass der Insulinwirkung abhängt, ist bei jedem Herzen verschieden. Je nach dem Ausmass der Insulinwirkung wird auch die Acetylcholinempfindlichkeit auf recht unübersichtliche Weise verändert. Es könnte dem Insulin deshalb eine pro-, respektive anticholinergische Wirkung zukommen, die schwer zu erfassen und von einer unbestimmten individuellen Verschiedenheit der Herzen zu trennen wäre.

Die toxische Wirkung des Insulins erschwert die Beurteilung weiterhin.

Für eine Wirkung des Insulins auf die Acetylcholinempfindlichkeit sprechen die Versuche am Präparat nach *Fühner* (mit 4 Einheiten Insulin), die eine deutlich anticholinergische Wirkung zeigen, und die Häufung gleichgerichteter Versuche am Anfang der Versuchsreihe auf Abb. 3.

2. Die Resultate liegen im Bereich der allgemeinen unterschiedlichen Ansprechbarkeit der verschiedenen Herzen auf pharmakologische Reize. Darum dürfen wir bei der relativ kleinen Zahl von Versuchen keine Schlüsse auf die pro-, respektive anticholinergische Wirkung des Insulins ziehen. Um die Resultate sicher beurteilen zu können, ist mit Rücksicht auf die individuelle Verschiedenheit ohnehin grosse Vorsicht in der Interpretation der Resultate angezeigt. Mit jedem Versuch muss ein Testversuch verbunden werden. Die beiden Ergebnisse müssen, von den übrigen Versuchen getrennt, untereinander verglichen werden. Es dürfen nicht die Durchschnittswerte der Versuche einer kleinen Zahl von Kontrollversuchen gegenübergestellt werden, wie dies in der Arbeit von *Welsh* geschieht.

Die Resultate unserer Versuche sind unabhängig vom Herkunftsort der Frösche, vom Versuchsmonat und von der Dauer

ihrer Gefangenschaft (die Frösche können während der Gefangenschaft nicht ernährt werden). Da diese drei Faktoren einige Anhaltspunkte für die Beurteilung der Veränderungen des Kohlehydratstoffwechsels geben, scheint uns vor allem die zuletzt erörterte Möglichkeit als Ursache für unsere uneinheitlichen Ergebnisse in Frage zu kommen.

### **Zusammenfassung**

1. Das Insulin übt auf das isolierte Froschherz eine negativ-inotrope und eine procholinerische Wirkung aus.
2. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von *Welsh* fanden wir eine unterschiedliche und uneinheitliche Änderung der Acetylcholinempfindlichkeit des Herzens und des musculus rectus abdominis, wenn der Frosch vor der Präparation der Organe mit Insulin behandelt worden ist.

Auch die Resultate am Präparat nach *Fühner* sind nicht eindeutig ausgefallen.

3. Die Uneinheitlichkeit der Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Wirkung des Insulins auf die Acetylcholinempfindlichkeit führen wir auf die individuell verschiedene Reaktionsweise der einzelnen Herzen zurück.

Es ist möglich, dass sich hinter der Unregelmässigkeit der Resultate eine pro-, respektive anticholinerische Wirkung verbirgt, die wegen der unterschiedlichen Stoffwechsellaage der einzelnen Herzen, oder wegen der zu kleinen Versuchszahl, oder auch wegen einer zu niedrigen Insulindosierung nicht eindeutig zum Ausdruck kam.

## Literatur

1. *F. Wyss und A. v. Muralt*: *Helv. Physiolog. acta* 2, 61 (1944).
2. *A. v. Muralt*: *Exper. Vo. I*, Nr. 5 (1945).
3. *H. Cottier und A. v. Muralt*: *Helv. Physiolog. acta*, Juli (1948).
4. *J. H. Welsh*: *Americ. Journ. Physiol.* 140/41 (1944).
5. *A. v. Muralt*: Einführung in die praktische Physiolog.
6. *H. Raaflaub*: *Diss.* (1945).
7. *Fühner*: *Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden*. Bd. V, S. 64.
8. *Marshall*: *Medecine* 9, 176 (1930).
9. *Moniz de Bettencourt J. und Cruz M.*: *Arch. Portugsci. biol.* 6, 117 (1940).
10. *Williams R. D., Masson H. L., Wilder R. M., Smith B. F.*: *Arch. in. Med.* 66, 785 (1940).
11. *Edlund Y.*: *Z. exper. Med.* 109, 11 (1941).
12. *Van Heersuynghe J., Thomas J.*: *Cardiologia*, 9, 211 (1945).
13. *Guerra*: *Arch. int. Physiol.* 23 (1924).
14. *Barlow O. W.*: *J. of Pharmacol.* 41, 217 (1931).
15. *Bucciardi G., Niederhäusern A.*: *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 5, 870 (1930).
16. *Cahen R.*: *C. r. Soc. Biol. Paris* 130, 119 (1939).
17. *Visscher M., Müller J.*: *J. Physiol.* 62, 341 (1927).
18. *De Agazio*: *Atti Accad. naz. Lincei VI*, s. 19, 650 (1934).
19. *Pal und Prasad S.*: *J. of Physiol.* 83, 285 (1935).
20. *Hennequin L.*: *Ann. de Physiol.* 10, 945 (1934).
21. *Eisenmayer und Quincke*: *Z. Biol.* 90, 57 (1930).
22. *Tamaki M.*: *Mitt. med. Ges. Chiba* 14, H. 8, 74 (1936).
23. *Berovitch R., Sobovlyey*: *Acta path. (Beograd)* 2, 174 (1939).
24. *Tanzi B.*: *Giorn. Clin. med.* 17, 1259 (1936).
25. *Negri A.*: *Z. exper. Med.* 111, 69 (1942).
26. *Meessen H.*: *Arch. Kreisl. forsch.* 6, 361 (1940).
27. *Hadorn W.*: *Arch. Kreisl. forsch.* Bd. 2, H. 1—5 (1937).
28. *Meyer H. E.*: *Zbl. inn. Med.* 761 (1936).
29. *Zit. bei Hadorn*: *Arch. Kreisl. forsch.* Bd. 2, H. 1—5 (1937).
30. *Cruickshank und Startup*: *J. of Physiol.* 81, 153 (1934).
31. *Fisher N. F., Lackey R. W.*: *Am. J. Physiol.* 72, 43 (1925).
32. *Evans C. L.*: *Recent advances in physiology Philadelphia*, 5th ed. (1936) chap. II.
33. *Shorr E., Sweet C., Malam M.*: *Am. J. Physiol.* 123, 185 (1938).
34. *Cruickshank und Shrivastava*: *Am. J. Physiol.* 92, 144 (1936).
35. *Eggers und Schumann*: *Z. Klin. Med.* 137, 710 (1940).
36. *Räihä C. M., Malm P.*: *Skand. Arch. Physiol.* 61, 64 (1931).
37. *Höber*: *Biochem. Z.* 60, 253 (1914).
38. *Heim F.*: *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* 192, 1 (1939).



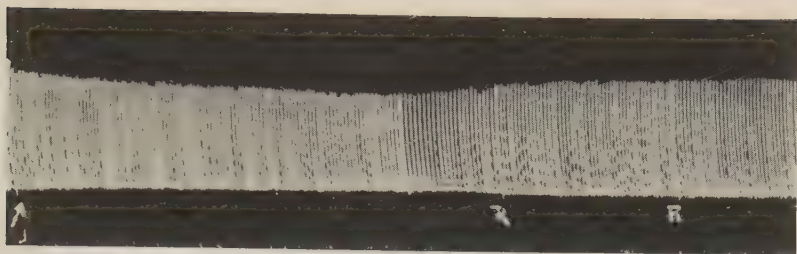


Abb. 8

J = Insulin    R = Ringerlösung

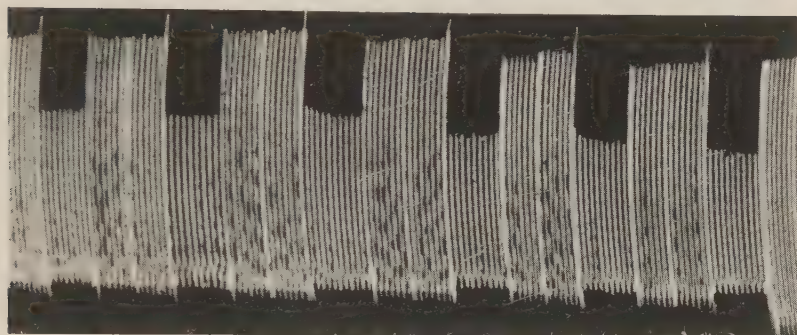


Abb. 9

A = Acetylcholin    B = Acetylcholin + Insulin    R = Ringerlösung

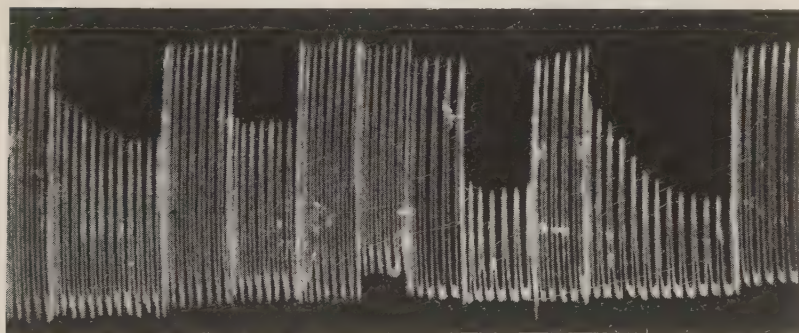
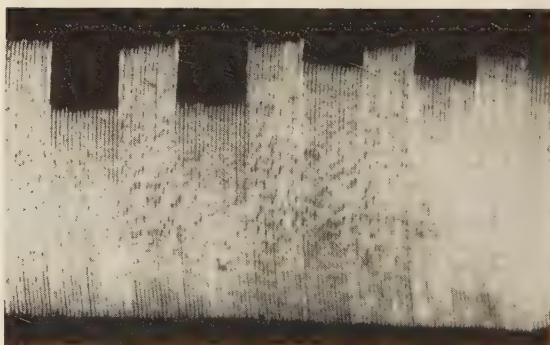


Abb. 10

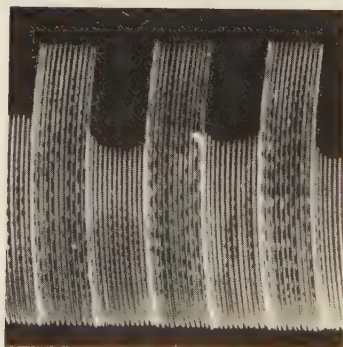
A = Acetylcholin    B = Acetylcholin nach Einwirkung des Insulins  
R = Ringerlösung



Ac<sub>1</sub> R Ac<sub>1</sub> R Ac<sub>2</sub> R Ac<sub>2</sub>

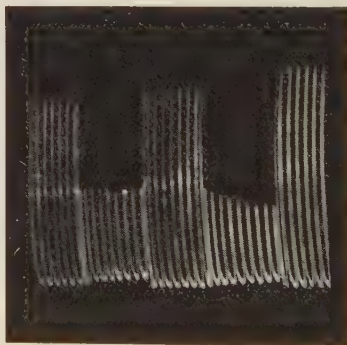


Ac<sub>2</sub> R Ac<sub>2</sub> R Ac<sub>1</sub> R Ac<sub>1</sub> R



A R A R

a)



A R A R

b)

a)

### Abb. 11

a) Einwirkungs-  
dauer des  
Insulins: 12 Std.  
bei 15°

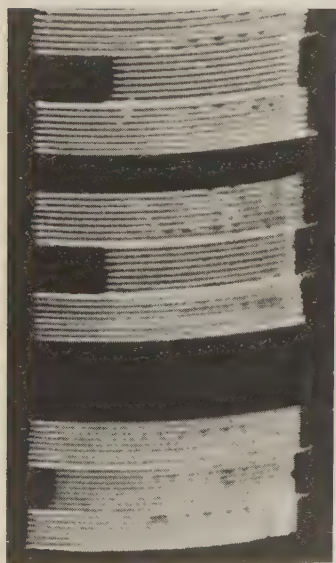
b) Testherz

A = Acetylcholin

c<sub>1</sub> = 1. Kon-  
zentration

c<sub>2</sub> = 2. Kon-  
zentration

R = Ringerlösung



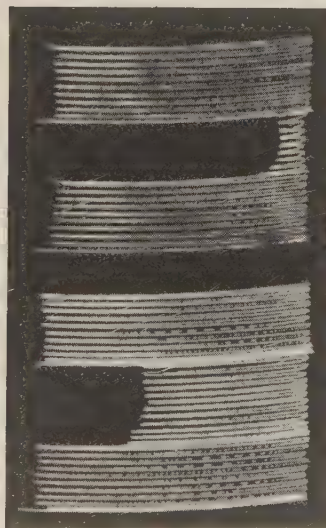
a)

b)



Ac1 R      Ac2 R      Ac2 R

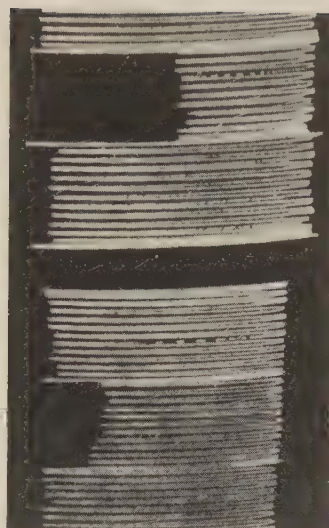
Abb. 12



Ac1 R      Ac2 R      R

a) Einwirkungsdauer des Insulins: 24 Std. bei 15°

b) Testherz

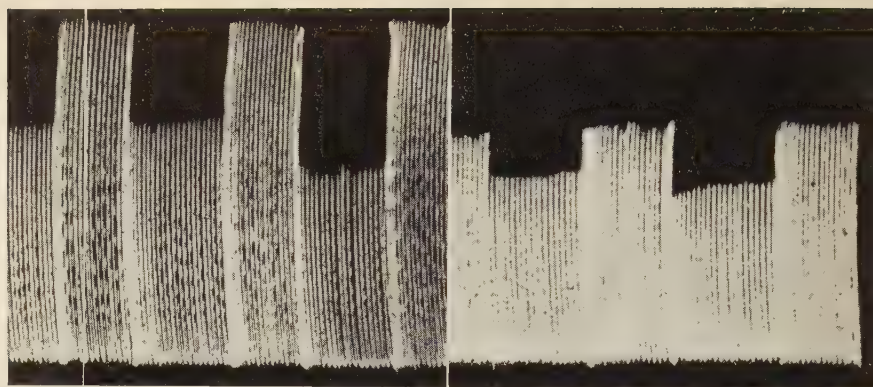


Ac1 R      Ac2 R      R

c1 = 1. Konzentration

c2 = 2. Konzentration

R = Ringerlösung

Ac<sub>1</sub>

R

Ac<sub>2</sub>

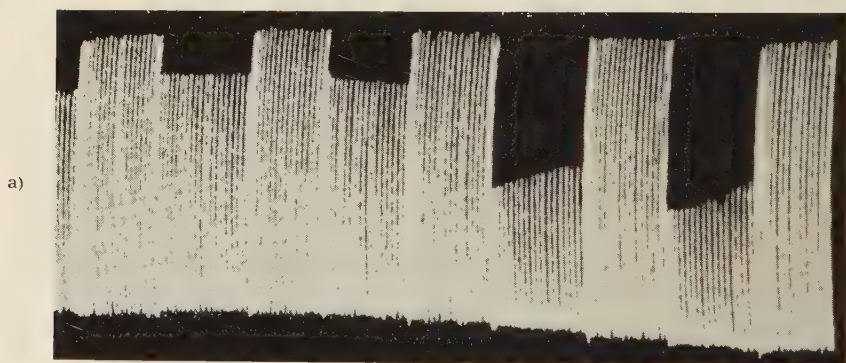
R

a)

Ac<sub>1</sub>

R

b)



a)

Ac<sub>1</sub>

R

Ac<sub>1</sub>

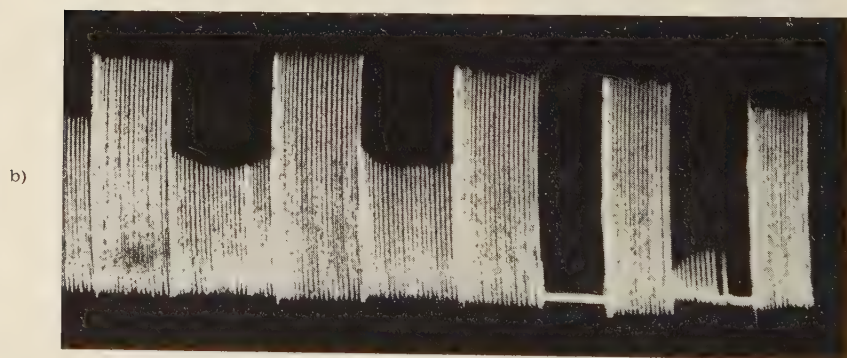
R

Ac<sub>2</sub>

R

Ac<sub>2</sub>

R



b)

Ac<sub>1</sub>

R

Ac<sub>1</sub>

R

Ac<sub>2</sub>

R

Ac<sub>2</sub>

R

Abb. 13 a) Einwirkungsdauer des Insulins: 6 Std. bei 25°  
 b) Testherz

A = Acetylcholin

c<sub>1</sub> = 1. Konzentrationc<sub>2</sub> = 2. Konzentration

R = Ringerlösung

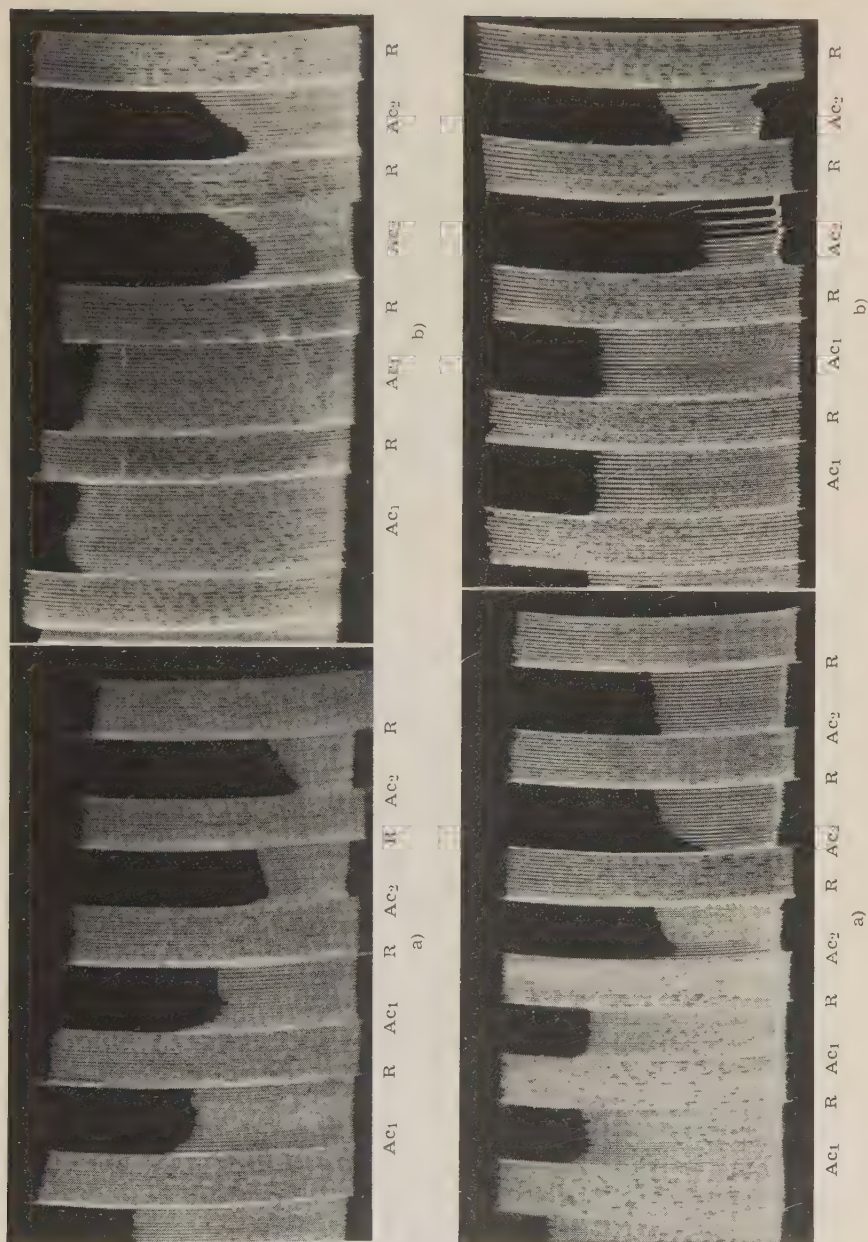


Abb. 14

a) Einwirkungsdauer des Insulins: 24 Std. bei 25°  
 b) Testherz

A = Acetylcholin  
 c<sub>1</sub> = 1. Konzentration  
 c<sub>2</sub> = 2. Konzentration  
 R = Ringerlösung

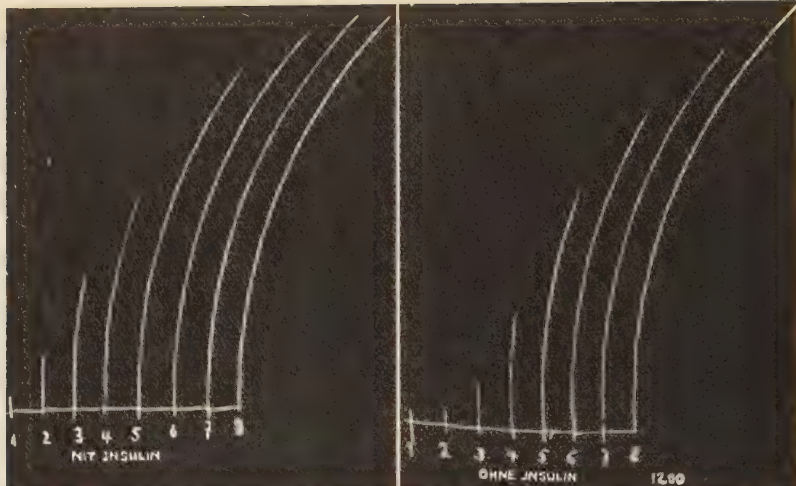


Abb. 15 Rectus abdominis.

a) Nach einer Einwirkungsdauer des Insulins von 12 Std. bei 15°  
 b) Testmuskel 1—8: Verschiedene Acetylcholinkonzentrate

# TAFEL VII

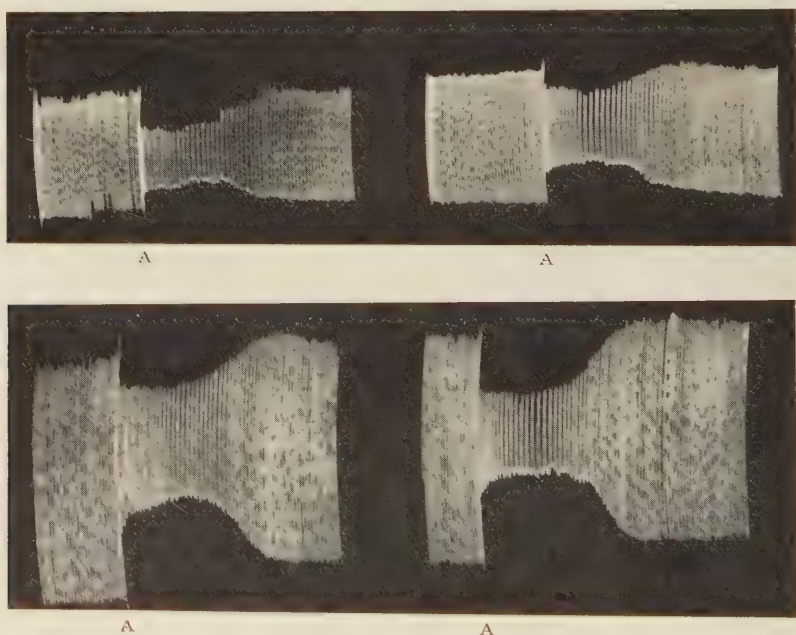
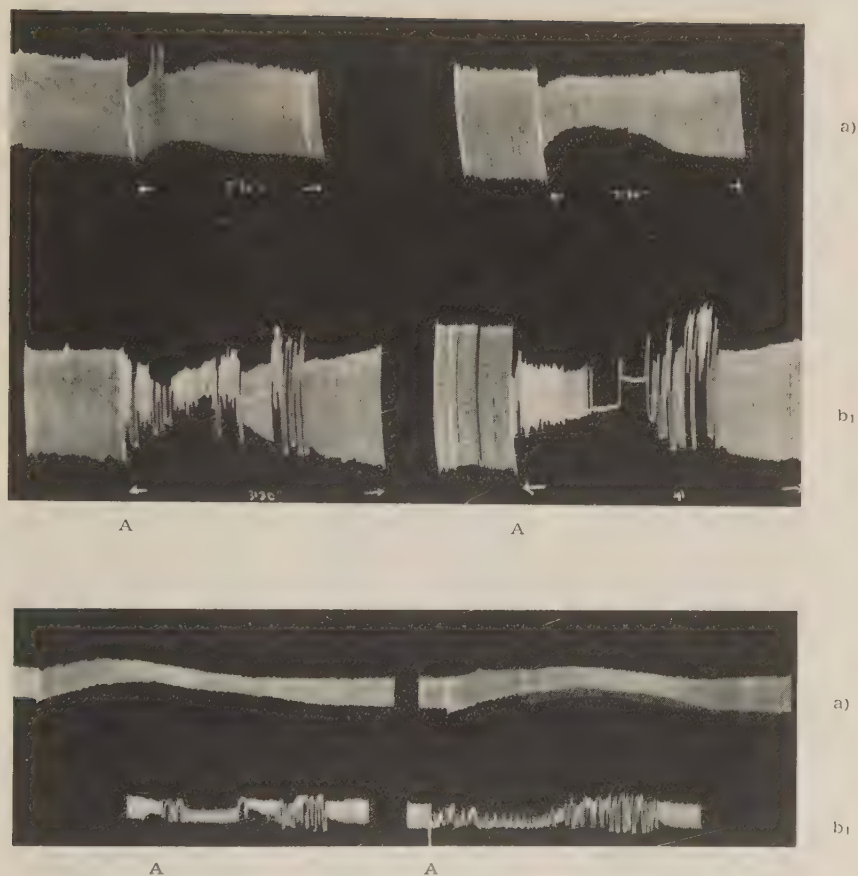


Abb. 16 a) :- Herz ohne Insulinvorbereitung  
 b<sub>1</sub> :- 60 Min. nach Injektion von Insulin i. v.  
 b<sub>2</sub> :- 90 Min. nach Injektion von Insulin i. v.  
 A :- Acetylcholin i. v.



**Abb. 16** a) = Herz ohne Insulinvorbereitung  
 b<sub>1</sub> = 60 Min. nach Injektion von Insulin i. v.  
 b<sub>2</sub> = 90 Min. nach Injektion von Insulin i. v.  
 A = Acetylcholin i. v.

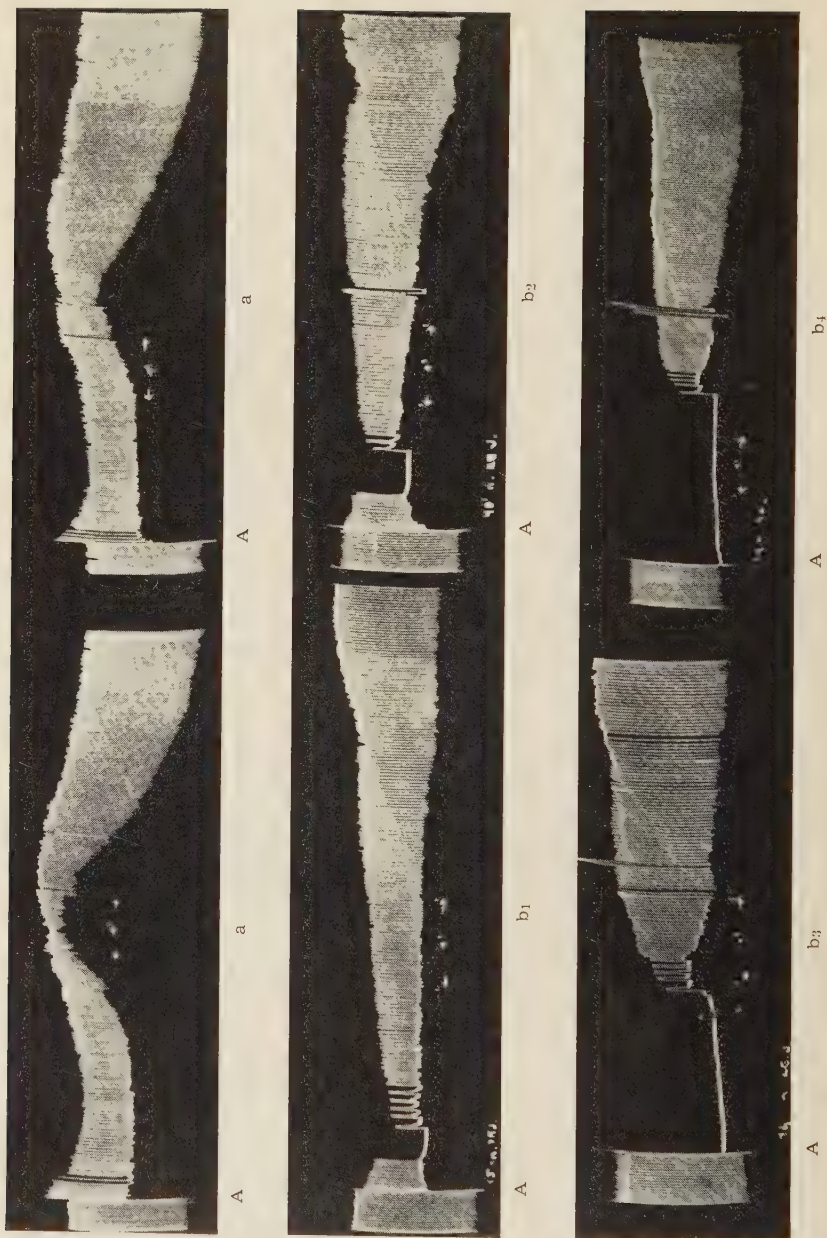


Abb. 16a

a Herz ohne Insülinvorbereitung  
 b<sub>1</sub> 25 Min. }  
 b<sub>2</sub> 40 Min. } nach Injektion von  
 b<sub>3</sub> 60 Min. } Insulin (2 E.) i. v.

b<sub>4</sub> 60 Min. nach  
 2. Injektion von  
 2 E. Insulin i. v.  
 A — Acetylcholin i. v.

Abb. 17

- a = Herz ohne Insulinvorbereitung  
 b<sub>1</sub> = 60 Min. nach Injektion von Insulin (4 E.) i. v.  
 b<sub>2</sub> = 5 Std. nach Injektion von Insulin i. v.  
 A = Acetylcholin i. v.

